

Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН

PONTUS EUXINUS  
ПОНТ ЭВКСИНСКИЙ : XII



**ПОНТ ЭВКСИНСКИЙ – 2021**

XII Всероссийская научно-практическая конференция молодых учёных с международным участием по проблемам водных экосистем, посвященная 150-летию Севастопольской биологической станции – ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»

Материалы конференции

Севастополь, 20–24 сентября 2021 г.

Севастополь  
ФИЦ ИнБЮМ  
2021

промывки водой, также не всегда удается достичь требуемой чистоты продукта во время соленой промывки, в результате чего в общей массе цист наблюдается большого количества цист без хориона, а также присутствуют остатки биомассы [3].

Также с 2007 г. известен следующий способ, который включает в себя сборку цист, ее соленую промывку, температурную активацию, пресную промывку, сушку, во время соленой промывки, производят обработку цист, агрессивную обработку аскорбатом натрия в рапе среды обитания рачка *Artemia*. После обработки цист раствор аскорбата натрия в рапе, их просеивают на виброситах. В случае, если чистота цист не достигнута и присутствуют цисты артемии без хориона, а также в наличие остатки биомассы, производят повторно обработку цист аскорбатом натрия в рапе. Еще один способ запатентованный в 2020 г. заключается в соленой промывке, температурную активацию, пресную промывку, сушку, сухую активацию и активацию веществом, являющимся носителем атомарного кислорода. После соленой промывки цисты закладываются в аппарат, где проходят активацию температурой и пресную промывку, затем сушат и отделяют от минеральных и органических включений. Также в этом аппарате можно производить и активацию цист артемии [4].

Как видно из выше сказанного, поиск наиболее выгодного способа заготовки цист рачка *Artemia salina* до сих пор остается актуальным. Если раньше рассматривали возможность обработки аскорбатом натрия в рапе среды обитания рачка, то сейчас уже появляются аппараты, которые способны облегчить способ заготовки цист артемии и повысить процент выклева рачка.

#### Список литературы

1. Кравченко Л. А., Маркина Н. Ю., Ткачева И. В. Пищевая ценность ракообразного *Artemia Salina* и применение его в рыбоводстве // Школа молодых новаторов : сборник научных статей Международной научной конференции перспективных разработок молодых ученых, 19 июня 2020 года : в 2-х томах. Курск : Юго-Зап. гос. ун-т., 2020. Т. 2. С. 289.
2. Веснина Л. В. Жаброногий рачок артемия // Рыбоводство и рыболовство. 2002. № 1. С. 68.
3. <https://findpatent.ru/patent/271/2718639.html> © , 2012-2021
4. Авторское свидетельство № 935044 СССР, МКИ А 01 К 61/00. Способ получения науплиусов из яиц веслоногого рачка *Artemia salina* : № 4171628/28-13 : заявлен 30.12.1986 ; опубликован 15.04.89 / Дудкин С. И., Абросимова Н. А., Мартынова Т. М., Плугина Л. М., Белов Е. Г. 2 с.

#### ДЕКОНТАМИНАЦИЯ КУЛЬТУР МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ПРИ КОЛЛЕКЦИОННОМ ХРАНЕНИИ

Челебиева Э. С., Данцюк Н. В.

ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН»,  
г. Севастополь

*Ключевые слова:* микроводоросли, *Naematococcus*, *Coelastrella*, аксеничная культура, антибиотики, фунгициды

Коллекционное хранение альгологических культур лежит в основе биотехнологии микроводорослей. Распространенной проблемой поддержания

стокового материала в течение длительного периода является заражение штаммов бактериями и/или грибами [1]. Для продолжительного хранения достаточно получения альгологически чистых культур с минимальным количеством контаминантов, однако для успешного проведения некоторых физиолого-биохимических, цитологических и молекулярно-генетических исследований требуется асепсичность штаммов [2]. Получение чистых культур микроводорослей под воздействием различных, отличающихся по механизму и спектру действия антибиотиков и фунгицидов является трудоемким и длительным процессом, но сохраняет свою актуальность, т.к. сильное загрязнение грибами и бактериями ставит под угрозу сохранность коллекционных штаммов и поддержание выделенных из природных образцов видов.

Цель работы - оценка влияния антибиотиков и фунгицидов на культуры одноклеточных зеленых микроводорослей для выявления препаратов, минимизирующих присутствие контаминантов в культурах при сохранении активного роста и жизнеспособности клеток водорослей.

В данном исследовании уровень бактериального и грибкового заражения оценивали на примере двух видов водорослей: штамм IBSS-108 *Haematococcus* sp. Flotow 1844, выделен в 2011 г. на о. Северо-Восточная Земля, (Норвегия, Архипелаг Шпицберген) из бассейна с красным налетом на гальке, и штамм IBSS-12 *Coelastrella rubescens* Kaufnerová & Eliás 2013, Sphaeropleales, получен в 2006 г. из коллекции микроводорослей и цианобактерий IPPAS ИФР РАН как *Scotiellopsis rubescens* Vinatzer 1975 (IPPAS H-350).

Культуры выращивали на жидких питательных средах ОНМ [3] и ВВМ [4]. Исследуемыми препаратами антибиотиков были цефотаксим (ОАО «Биохимик») и ампициллин (РУП «Белмедпрепараты»), обладающие широким спектром антимикробного действия. В качестве фунгицидов использовали нистатин (ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов») - противогрибковый препарат из группы полиенов, нарушающий проницаемость в клеточной мембране грибов; фундазол (ООО «Фирма «Зеленая Аптека Садовода»») – системный фунгицид, при проникновении в ткани растения действующее вещество блокирует репродуктивную функцию грибов. Отдельные антибиотики, фунгициды и их комбинации добавляли в жидкую и агаризованные питательные среды, используемые для лабораторного культивирования микроводорослей. Для контроля использовали питательную среду без антибиотиков и фунгицидов. Для оценки токсичности различных фунгицидов и антибиотиков относительно культур микроводорослей использовали диапазон концентраций (10-40 мкг/мл; 200-700 мкг/мл, соответственно).

При анализе полученных результатов был выявлен наиболее эффективный коктейль антибиотиков (ампициллин и цефотаксим) в концентрации 700 мкг/мл и 200 мкг/мл, соответственно, который подавлял бактериальную флору при сохранении жизнеспособности клеток микроводорослей. Более результативным в подавлении микромицетов оказался фундазол (беномил). В концентрации 40 мкг/мл данный фунгицид также оказался безвредным для клеток *Haematococcus* sp. и *Coelastrella rubescens*. Более высокое содержание препаратов в среде ингибировало рост микроводорослей. Отмечено, что двукратный перенос зараженных культур на агаризованные питательные среды, содержащие ранее описанный коктейль антибиотиков и фунгицидов, позволяет минимизировать количество контаминантов в культурах до незначительного присутствия.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по Теме № 0556-2021-0004 “Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса”

### Список литературы.

1. Kan Y., Pan J. A one-shot solution to bacterial and fungal contamination in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* culture by using in antibiotic cocktail // Journal of Phycology. 2010. Vol. 46, iss. 6. P. 1356–1358. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2010.00904.x>
2. Темралеева А. Д., Минчева Е. В., Букин Ю. С., Андреева А. М. Современные методы выделения, культивирования и идентификации зеленых водорослей (Chlorophyta). Кострома : Костромской печатный дом, 2014. 215 с.
3. Fábregas J., Domínguez A., Regueiro M., Maseda A., Otero A. Optimization of culture medium for the continuous cultivation of the microalga *Haematococcus pluvialis* // Applied Microbiology Biotechnology. 2000. Vol. 53. P. 530–535. <https://doi.org/10.1007/s002530051652>
4. Bischoff H. W., Bold H. C. Some soil algae from enchanted rock and related algal species. Austin, Tex. : University of Texas, 1963. 95 p. (Texas University. Phycological Studies, no. IV).